

## Genomsequenz von Schimmelpilzen bringt Sex ans Licht

Reinhard Fischer<sup>1</sup> und Gerhard H. Braus<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universität Karlsruhe, <sup>2</sup>Universität Göttingen

► Aspergillen (Gießkannenschimmel) und andere Schimmelpilze begleiten uns auf Schritt und Tritt, kommen in allen Klimazonen von der Sahara bis zur Antarktis vor und haben vielfältige Bedeutungen für Natur und Mensch. Sie sind im Boden maßgeblich an der Remineralisierung von organischem Material beteiligt, dienen als Lebensmittelveredler, stellen Penicillin her, können durch Mycotoxinbildung erhebliche Ernteauffälle verursachen oder zu lebensbedrohlichen Infektionen bei immungeschwächten Patienten führen. Drei repräsentative Vertreter mit diesem Potenzial sind *Aspergillus fumigatus*, *A. oryzae* und *A. nidulans*. Nachdem deren Primärsequenzen ermittelt waren, wurden die Genome durch ein weltweites Konsortium, an dem aus Deutschland die Gruppen der beiden Autoren beteiligt waren, annotiert und analysiert<sup>[1, 2, 3]</sup>.

### Gleicher Lifestyle und doch sehr verschieden

Alle drei Aspergillusarten sind im Boden verbreitet und ernähren sich von organischem Material (Abb. 1). *A. fumigatus* gilt als einer der „teuersten“ Pilze für die weltweiten Gesundheitssysteme, da er bei immungeschwächten Patienten (Leukämie, HIV u. a.), häufig rasch zum Tode führt. Ein Problem für die Bekämpfung liegt darin, dass *A. fumigatus* als opportunistisches Pathogen keinen Wirt zum Überleben braucht, sondern sich ebenso gut von abgestorbenen Blättern, Kompost oder Stroh ernährt. Warum gerade *A. fumigatus* mehr als andere Aspergillen den Menschen besiedelt, ist unklar. Die allen Aspergillen eigene, metabolische Vielseitigkeit und Genügsamkeit trägt wahrscheinlich zur Pathogenität von *A. fumigatus* bei. Da der molekulare Mechanismus der Infektion kaum verstanden ist, sind die Behandlungsmöglichkeiten von Aspergillosen gegenwärtig erschreckend begrenzt.

Ein industriell seit Jahrtausenden für die Sojasauce- (Tamari) und Reisweinherstellung (Sake) wichtiger Pilz ist *A. oryzae*. Der Pilz produziert Enzyme, die das Sojabohnenprotein zu Peptiden, einzelnen Aminosäuren und Ammoniak spalten und die Stärke bis zur Glukose abbauen. Glukose wird dann zum Teil von Milchsäurebakterien zu Milchsäure und von Hefen in Alkohol um-

gesetzt, sodass sich im fertigen Produkt rund 300 Geschmacks- und Aromastoffe finden. Bei der Sakeherstellung stammt der fermentierbare Zucker aus der Stärke der Reiskörner. Aufgrund der hervorragenden Proteinsekretion und des anerkannten GRAS (Generally Regarded As Safe)-Status wird *A. oryzae* in der modernen Biotechnologie oft zur Produktion von Enzymen und Proteinen eingesetzt.

Unter den insgesamt 185 verschiedenen Aspergillen spielt *A. nidulans* für die Wissenschaft eine zentrale Rolle. Diese verdankt er der Tatsache, dass er sich im Gegensatz zu seinen Artgenossen asexuell und sexuell fortpflanzen kann. In den letzten 50 Jahren hat die Forschung zu *A. nidulans* das Verständnis zahlreicher Prozesse auf dem Gebiet der Stoffwechselkontrolle und Gen-

regulation, der Entwicklungsbiologie, der Zellzykluskontrolle, der Chromatinstruktur, der Zytoskelettfunktion, der DNA-Reparatur, der pH-Kontrolle und auch auf dem Gebiet genetisch bedingter Krankheiten erheblich vorangetrieben. So wurde  $\gamma$ -Tubulin – eine essenzielle Komponente von Mikrotubuli-organisierenden Zentren (Centrosomen) aller Eukaryoten – in einem genetischen Screen in *A. nidulans* entdeckt<sup>[4, 5]</sup>.

### Unterschiede und Gemeinsamkeiten

Die Ergebnisse der Genomanalysen zeigen, dass die drei Pilze – *A. oryzae*, *A. fumigatus* und *A. nidulans* – obwohl zur gleichen Gattung zählend, genetisch weniger übereinstimmen als bisher vermutet. Die Genomgrößen weichen stark voneinander ab, und die Ähnlichkeit der Proteine liegt im Durchschnitt nur zwischen 66 und 70 Prozent, was der Ähnlichkeit der Proteine von Fisch und Mensch entspricht (Tab. 1). Während beim Vergleich der Proteine der Aspergillen die unerwartet hohen Unterschiede überraschten, sind die Bereiche zwischen den Genen unerwartet ähnlich. Nicht weniger als 5000 intergenische Regionen sind zwischen den drei Aspergillen konserviert. Innerhalb die-

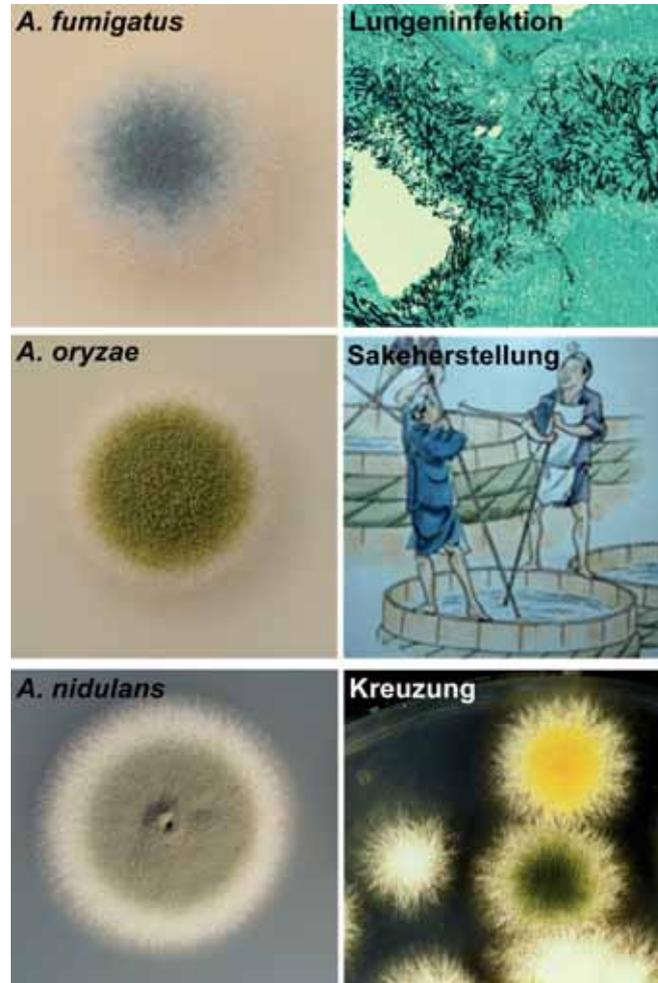
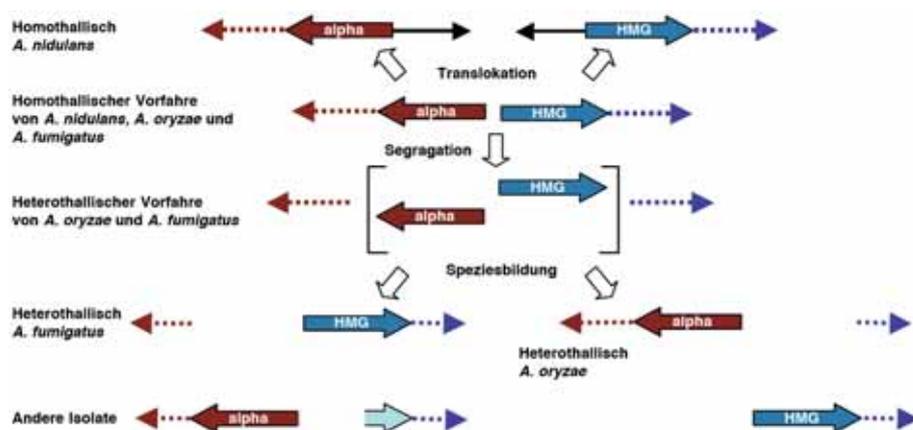


Abb. 1: *A. fumigatus*, *A. oryzae* und *A. nidulans* im Vergleich. Links Kolonien der entsprechenden Pilze und rechts je ein Charakteristikum. Bei der Lungeninfektion sind die *A. fumigatus*-Hyphen angefärbt (Bild: Matthias Brock, Hans-Knöll-Institut, Jena).



**Abb. 2: Entwicklung der Paarungstypgene in Pilzen.** Während *A. nidulans* als homothallicher Pilz beide Paarungstypgene, HMG- und Alpha-Box-Gen, besitzt, kommt im Genom des sequenzierten *A. fumigatus*-Stammes nur ein HMG-Gen (und ein Fragment eines zweiten HMG-Gens) und im Genom von *A. oryzae* nur ein Alpha-Box-Gen vor. Die Genomdaten führen zur Hypothese, dass sich die offensichtlich heterothalliche Situation in *A. fumigatus* und *A. oryzae* aus einer homothallichen Anordnung der Paarungstypgene entwickelt hat (verändert nach<sup>[9]</sup>).

ser Regionen gibt es wiederkehrende Muster für funktionelle Bereiche, etwa die zahlreichen Bindestellen für den globalen transkriptionellen Regulator CPCA/GCN4. Dieser Transkriptionsfaktor ist sowohl für die Regulation des Metabolismus, beispielsweise die Bereitstellung ausreichender Aminosäuremengen, als auch für pilzliche Entwicklungsprogramme wichtig, wie die Virulenz von *A. fumigatus*<sup>[6]</sup> oder die Fruchtkörperbildung von *A. nidulans*<sup>[7]</sup>.

### Sex im Dunkeln

Die erzielten Resultate erlauben neue Rückschlüsse über Genomevolution und Genomregulation. Die Genomsequenz hat Licht in die Sexualität der drei Schimmelpilze gebracht. Bisher galt nur *A. nidulans* als sexueller Organismus. *A. fumigatus* und *A. oryzae* werden zu den Deuteromyceten gerechnet, bei denen nur eine ungeschlechtliche Vermehrung beschrieben wurde. Obwohl es bereits Hinweise auf das Vorhandensein von Genen, die für die Paarung von Pilzen benötigt werden<sup>[8]</sup>, in *A. fumigatus* und anderen Pilzen gab, erlaubte die vollständige Genomsequenz eine detaillierte Analyse (Abb. 2). Die Paarung bei Ascomyceten wird unter anderem durch ein Protein mit einer „High-Mobility Group“-Domäne (HMG) und einem Alpha-Box-Protein gesteuert. *A. nidulans* besitzt als homothallicher Pilz beide Gene und benötigt daher keinen zweiten Sex-Partner. Im Genom von *A. fumigatus* wurde ein HMG-Gen gefunden, aber das Alpha-Box-Gen fehlt. *A. oryzae* hingegen hat nur ein Alpha-Box-Gen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass in der Natur Stämme mit unterschiedlichen Paarungstypgenen existieren. Das wurde kürzlich tatsächlich

nachgewiesen<sup>[9]</sup>. Neben den Paarungstypgenen fanden sich in den Genomen von *A. fumigatus* und *A. oryzae* mehr als 200 Gene, die für Paarung, Meiose und Fruchtkörperbildung in *A. nidulans* wichtig sind. Eine erfolgreiche Kreuzung im Labor steht allerdings noch aus.

Ein zweiter Aspekt, der im Wortsinne beleuchtet wurde, ist die Lichtabhängigkeit der Entwicklung in *A. nidulans*. Es war lange bekannt, dass die lichtabhängige Entwicklung der Phytochromreaktion bei Pflanzen ähnelt<sup>[10]</sup>. Erst Genomanalysen zeigten allerdings, dass Phytochrome tatsächlich in Pilzen vorkommen<sup>[11]</sup>. In *A. nidulans* wurde vor kurzem nachgewiesen, dass Phytochrom an der Lichtperzeption beteiligt ist<sup>[12]</sup>.

Neben den genannten Aspekten haben die Genomsequenzen eine Fülle von neuen Erkenntnissen und Einsichten in die Lebensweise der Pilze geliefert. Die Genomsequenzen versprechen einen Quantensprung in der Analyse wichtiger Prozesse wie der Mycotoxinbildung, der Pathogenität von *A. fumigatus*, der Proteinproduktion und des Sekundärmetabolismus von *A. oryzae* oder des polaren Wachstums in *A. nidulans* als Modell für polares Wachstum auch in anderen Zellen – einschließlich einer menschlichen Nervenzelle.

### Literatur

- [1] Galagan, J.E., Calvo, S.E., Cuomo, C., et al. (2005): Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. *Nature* 438: 1105–1115.
- [2] Machida, M., Asai, K., Sano, M., et al. (2005): Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. *Nature* 438: 1157–1161.

- [3] Nierman, W., Pain, A., Anderson, M.J., et al. (2005): Genomic sequence of the pathogenic and allergenic fungus *Aspergillus fumigatus*. *Nature* 438: 1151–1156.
- [4] Oakley, C.E., and Oakley, B.R. (1989): Identification of gamma-tubulin, a new member of the tubulin superfamily encoded by *mipA* gene of *Aspergillus nidulans*. *Nature* 338: 662–664.
- [5] Weil, C.F., Oakley, C.E., and Oakley, B.R. (1986): Isolation of *mip* (microtubule-interacting protein) mutations of *Aspergillus nidulans*. *Mol Cell Biol* 6: 2963–2968.
- [6] Krappmann, S., Bignell, E.M., Reichhard, U., et al. (2004): The *Aspergillus fumigatus* transcriptional activator CpcA contributes significantly to virulence of this fungal pathogen. *Mol Microbiol* 52: 785–799.
- [7] Hoffmann, B., Wanke, C., LaPaglia, K.S., et al. (2000): c-Jun and RACK1 homologues regulate a control point for sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Mol Microbiol* 37: 28–41.
- [8] Pöggeler, S. (2002): Genomic evidence for mating abilities in the asexual pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Curr Genet* 42: 153–160.
- [9] Paoletti, M., Rydholm, C., Schwier, E.U., et al. (2005): Evidence for sexuality in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Curr Biol* 15: 1242–1248.
- [10] Mooney, J.L., and Yager, L.N. (1990): Light is required for conidiation in *Aspergillus nidulans*. *Genes Dev* 4: 1473–1482.
- [11] Bhoo, S.-H., Davis, S.J., Walker, J., et al. (2007): Bacteriophytochromes are photochromic histidine kinases using a biliverdin chromophore. *Nature* 444: 776–779.
- [12] Blumenstein, A., Vienken, K., Tasler, R., et al. (2005): The *Aspergillus nidulans* phytochrome FphA represses sexual development in red light. *Curr Biol* 15: 1833–1838.

### Korrespondenzadressen:

**Prof. Dr. Reinhard Fischer**  
 Institut für Angewandte Biowissenschaften  
 Abt. Angewandte Mikrobiologie  
 Universität Karlsruhe  
 Hertzstr. 16  
 D-76187 Karlsruhe  
 Tel.: 0721-608-4630  
 Fax: 0721-608-4509  
 reinhard.fischer@bio.uni-karlsruhe.de

**Prof. Dr. Gerhard H. Braus**  
 Institut für Mikrobiologie & Genetik  
 Abt. Molekulare Mikrobiologie & Genetik  
 Georg-August-Universität Göttingen  
 Grisebachstr. 8  
 D-37077 Göttingen  
 Tel.: 0551-393771  
 Fax: 0551-393330  
 gbraus@gwdg.de